

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
20 juin 2002 (20.06.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/48691 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
G01N 21/64

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : COM-
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];
31/33, rue de la Fédération, F-75752 PARIS 15ème (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/03960

(72) Inventeurs; et

(22) Date de dépôt international :
12 décembre 2001 (12.12.2001)

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : CHATON,
Patrick [FR/FR]; Loutre, F-38570 THEYS (FR). VINET,
Françoise [FR/FR]; 22, boulevard Edouard Rey, F-38000
GRENOBLE (FR). BARRITAULT, Pierre [FR/FR]; 54,
rue de Stalingrad, F-38100 GRENOBLE (FR). GETIN,
Stéphane [FR/FR]; 10, impasse des Sablons, F-38120
SAINT-EGREVE (FR).

(25) Langue de dépôt : français

(74) Mandataire : LEHU, Jean; c/o BREVATOME, 3, rue du
Docteur Lancereaux, F-75008 PARIS (FR).

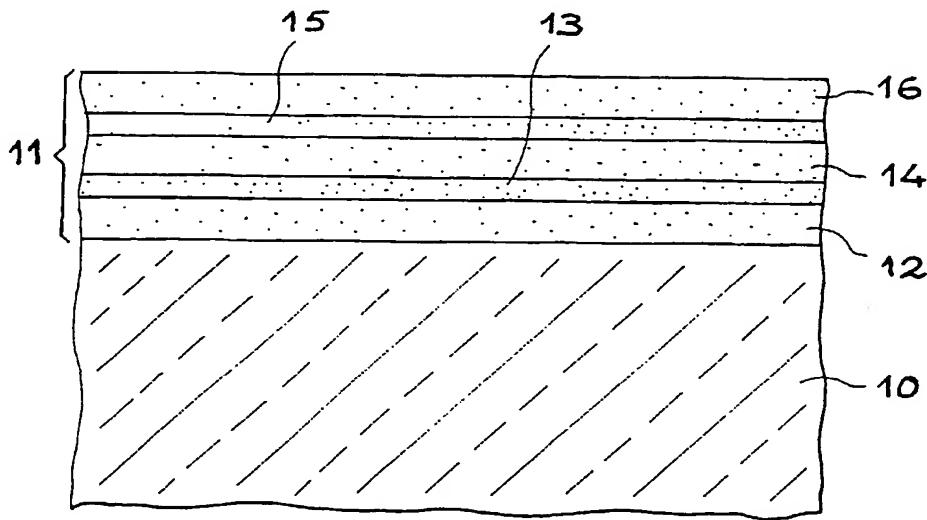
(26) Langue de publication : français

(81) États désignés (national) : JP, US.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: DEVICE FOR ENHANCING WIDEBAND FLUORESCENCE WITH LOW LOSSES AND BIOLOGICAL OR CHEMICAL OPTICAL SENSOR USING SAME

(54) Titre : DISPOSITIF DE RENFORCEMENT DE FLUORESCENCE LARGE BANDE A FAIBLES PERTES ET CAPTEUR OPTIQUE BILOGIQUE OU CHIMIQUE L'UTILISANT.



WO 02/48691 A1

(57) Abstract: The invention concerns a device for enhancing fluorescence comprising a support (10) supporting fluorescence enhancing means (11), the fluorescence enhancing means providing a surface for receiving chemical or biological elements to be read by detection of a fluorescence signal emitted by a fluorophore, associated with the chemical or biological elements, under the effect of an excitation light beam. The fluorescence enhancing means (11) consist of a thin transparent dielectric layer or a stack of thin transparent dielectric layers (12 to 16) ensuring a mirror function for the fluorescence signals and for the excitation light beam, the material of the thin layer or of each thin layer of the stack being selected among the following materials: TiO₂, Ta₂O₅, HfO₂, ZrO₂, MgO, SiO₂, Si₃N₄, MgF₂, YF₃. The invention is applicable to a biological or chemical optical sensor.

[Suite sur la page suivante]



(84) **États désignés (régional) :** brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

Publiée :

- *avec rapport de recherche internationale*
- *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues*

(57) **Abrégé :** L'invention concerne un dispositif de renforcement de fluorescence comprenant un support (10) supportant des moyens de renforcement de fluorescence (11), les moyens de renforcement de fluorescence offrant une face de réception pour des éléments chimiques ou biologiques destinés à être lus par détection d'un signal de fluorescence émis par un fluorophore, associé aux éléments chimiques ou biologiques, sous l'effet d'un faisceau lumineux d'excitation. Les moyens de renforcement de fluorescence (11) sont constitués par une couche mince diélectrique transparente ou un empilement de couches minces diélectriques transparentes (12 à 16) assurant une fonction miroir pour le signal de fluorescence et pour le faisceau lumineux d'excitation, le matériau de la couche mince ou de chaque couche mince de l'empilement étant choisi parmi les matériaux suivants : TiO₂, Ta₂O₅, HfO₂, ZrO₂, MgO, SiO₂, Si₃N₄, MgF₂ et YF₃.

DISPOSITIF DE RENFORCEMENT DE FLUORESCENCE LARGE BANDE
A FAIBLES PERTES ET CAPTEUR OPTIQUE BIOLOGIQUE OU
CHIMIQUE L'UTILISANT

5

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

L'invention concerne un dispositif de renforcement de fluorescence large bande à faibles pertes. Elle concerne aussi un capteur optique 10 biologique ou chimique utilisant un tel dispositif de renforcement de fluorescence.

ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

15 La détection de réactions chimiques ou biologiques sur un support solide par marquage fluorescent est rendue difficile par les faibles niveaux de signal émis par les fluorophores.

Il existe deux méthodes permettant de 20 renforcer le signal émis par les fluorophores. Elles sont basées sur l'exacerbation du champ excitateur par des ondes évanescentes. Ces méthodes impliquent l'utilisation de scanners dédiés. Du fait de leurs principes de fonctionnement avec des modes guidés, ces 25 méthodes ne sont pas large-bande. L'excitation doit s'effectuer avec une condition de résonance bien déterminée.

Le document "Sensitivity enhancement of 30 optical immunosensors by the use of a surface plasmon resonance fluoroimmunoassay" de F.W. ATTRIDGE et al., Biosensors & Bioelectronics, vol. 6, 1991, page 201 à

214, divulgue une méthode de renforcement de fluorescence basée sur les plasmons de surface. Cette méthode consiste à déposer sur le biocapteur, entre le substrat et la couche contenant les éléments chimiques 5 ou biologiques, une couche mince métallique (d'argent par exemple) recouverte par une couche de silice. Le biocapteur est placé sur une lentille hémisphérique (ou un prisme). Le faisceau d'excitation traverse ce composant et arrive sur la couche d'argent de telle 10 manière que des plasmons de surface soient générés. Ce phénomène crée un champ exciteur intense qui permet d'exacerber l'émission en fluorescence. Malheureusement, l'emploi d'une couche mince métallique implique l'existence de pertes non radiatives 15 préjudiciables au renforcement de fluorescence.

Le document "Slab Waveguides in Chemistry" de L. KANG et al., Critical Reviews in Analytical Chemistry, vol. 21, N° 6, 1990, pages 377 à 388, divulgue une méthode de renforcement de fluorescence 20 basée sur l'optique guidée. Cette méthode consiste à déposer sur le biocapteur, entre le substrat et la couche contenant les éléments chimiques ou biologiques, une structure guidante. Par un dispositif de couplage approprié (prisme, réseau) la lumière est injectée dans 25 le guide: La réflexion de la lumière guidée à l'interface guide/milieu contenant les fluorophores crée une onde évanescante dans le milieu contenant les fluorophores. Cette onde évanescante crée une surintensité qui permet d'exciter le fluorophore de 30 telle manière qu'il émet une quantité importante de lumière. .

Ces deux méthodes permettent donc d'augmenter le signal de fluorescence. Cependant, comme il a été dit plus haut, ces méthodes impliquent l'utilisation de scanners. Ces méthodes ne sont pas 5 large-bande.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'objectif de l'invention est de renforcer la fluorescence par des ondes classiques (propagatives), ce qui permet une lecture du signal de 10 fluorescence par des instruments commerciaux. Il s'agit de plus d'élargir les possibilités de renforcement de fluorescence en utilisant un composant fonctionnant sur une bande spectrale large. Il s'agit enfin de limiter les pertes non radiatives dues aux imperfections des 15 matériaux employés.

La technique de détection proposée par l'invention est basée sur le dépôt d'un empilement de couches minces optiques réalisant une fonction miroir à faibles pertes non radiatives.

20 Un premier objet de l'invention consiste en un dispositif de renforcement de fluorescence comprenant un support supportant des moyens de renforcement de fluorescence, les moyens de renforcement de fluorescence offrant une face de. 25 réception pour des éléments chimiques ou biologiques destinés à être lus par détection d'un signal de fluorescence émis par un fluorophore, associé aux éléments chimiques ou biologiques, sous l'effet d'un faisceau lumineux d'excitation, caractérisé en ce que 30 les moyens de renforcement de fluorescence sont constitués par une couche mince diélectrique

transparente ou un empilement de couches minces diélectriques transparentes assurant une fonction miroir pour le signal de fluorescence et pour le faisceau lumineux d'excitation, le matériau de la 5 couche mince ou de chaque couche mince de l'empilement étant choisi parmi les matériaux suivants : TiO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 , ZrO_2 , MgO , SiO_2 , Si_3N_4 , MgF_2 et YF_3 .

10 L'épaisseur e de la couche mince ou l'épaisseur de chaque couche mince de l'empilement peut être calculée à partir de la formule suivante :

$$N \cdot e = k \cdot \lambda / 4$$

où N est l'indice de réfraction du matériau de couche mince pour la longueur λ du signal de lecture et k est un entier impair.

15 Eventuellement, les moyens de renforcement de fluorescence sont des moyens déposés sur une face structurée du support.

20 Selon les applications, ladite face de réception peut être une face offrant des fonctions hydroxyles ou une face offrant des fonctions aldéhydes.

25 Un deuxième objet de l'invention consiste en un capteur optique biologique ou chimique constitué par le dispositif décrit ci-dessus, ladite face de réception supportant des éléments chimiques ou biologiques marqués par un fluorophore.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

L'invention sera mieux comprise et d'autres avantages et particularités apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée à titre

d'exemple non limitatif, accompagnée des dessins annexés parmi lesquels :

- la figure 1 est une vue en coupe transversale d'un capteur optique selon la présente 5 invention,

- la figure 2 est une vue en coupe transversale d'un dispositif de renforcement de fluorescence selon la présente invention.

10 **DESCRIPTION DETAILLEE DE MODES DE REALISATION DE L'INVENTION**

La figure 1 est une vue en coupe transversale d'un capteur optique, biologique ou chimique, selon la présente invention. Elle représente 15 un substrat 1 supportant des moyens de renforcement de fluorescence 2 qui supportent à leur tour des substances chimiques ou biologiques marquées par un fluorophore. Ces substances sont représentées sous la forme d'une couche 3.

20 On a représenté sur cette figure une lentille de focalisation 4 et un faisceau de lecture 5 pour symboliser le système de lecture et d'excitation par microscopie en épifluorescence.

Les moyens de renforcement de fluorescence 25 2 peuvent être constitués par un empilement de couches minces diélectriques. Ces couches minces peuvent être constituées à partir des matériaux suivants : TiO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 , ZrO_2 , MgO , SiO_2 , Si_3N_4 , MgF_2 et YF_3 . Ces matériaux peuvent être déposés par des techniques de 30 type PVD (canon à électrons, pulvérisation.), par des techniques de type CVD ou par dépôt sol-gel.

Ces moyens de renforcement de fluorescence sous forme de couches minces peuvent être déposés sur l'ensemble du substrat ou sur un substrat structuré. Dans ce dernier cas, ils peuvent être localisés par des 5 techniques classiques de lithographie, de "lift off" ou de masquage mécanique. Dans tous les cas, la stoechiométrie des matériaux doit être parfaitement maîtrisée. Un soin particulier est apporté à la dernière couche pour éviter la création de pertes non 10 radiatives.

La dernière couche mince doit présenter une compatibilité biologique avec les sondes à greffer sur cette couche. La silice ou le nitrure de silicium présentent cette qualité de compatibilité biologique.

15 Les moyens de renforcement de fluorescence assurent une fonction miroir pour la longueur d'onde d'excitation. Pour cela, il suffit que les épaisseurs optiques des différentes couches minces suivent la règle suivante :

20
$$N.e = k \cdot \frac{\lambda}{4} \quad (1)$$

N étant l'indice de réfraction du matériau considéré à la longueur d'onde d'excitation, k étant un nombre entier impair, λ la longueur d'onde d'excitation et e l'épaisseur optique de la couche considérée. On entend 25 par "épaisseur optique" le produit de l'indice de réfraction avec l'épaisseur mécanique de la couche mince pour la longueur d'onde considérée.

On va maintenant décrire la réalisation d'un dispositif de renforcement de fluorescence pour

une biopuce à ADN, ce dispositif étant optimisé pour le fluorophore CY3.

La figure 2 montre, en coupe transversale, un tel dispositif. Sur un substrat 10 en silicium, les 5 moyens de renforcement de fluorescence 11 ont été déposés sous la forme de cinq couches référencées 12 à 16. Ce dispositif est prévu pour une longueur d'onde d'excitation du fluorophore CY3 d'environ 550 nm

Les couches 12, 14 et 16 sont en SiO_2 , 10 d'indice de réfraction 1,46 pour la longueur d'onde d'excitation considérée. Les couches 13 et 15 sont en Si_3N_4 , d'indice de réfraction 2 pour la longueur d'onde d'excitation considérée.

En appliquant la règle (1) ci-dessus, on 15 obtient, pour $k = 1$, une épaisseur mécanique de 94 nm pour chaque couche de SiO_2 et une épaisseur mécanique de 69 nm pour chaque couche de Si_3N_4 .

Avec cet empilement de couches, la largeur de bande disponible pour l'excitation est de + ou - 20 100 nm autour de la longueur d'onde de centrage de 550 nm. Il est donc compatible à la fois pour le fluorophore CY3 et le fluorophore CY5.

Pour la lecture en fluorescence, on peut utiliser un microscope optimisé pour CY3. Il est doté 25 d'un filtre optique de sélection de la lumière d'excitation à 546 nm pour une largeur spectrale de 10 nm environ.

Les couches de SiO_2 peuvent être déposées par un procédé de type CVD à 800°C. Les couches de Si_3N_4 30 peuvent être déposées par un procédé de type CVD à 730°C.

Les moyens de renforcement de fluorescence peuvent ne comporter qu'une seule couche, par exemple une couche de SiO_2 d'épaisseur mécanique 500 nm.

On va maintenant décrire quelques étapes de 5 greffage et d'hybridation sur le dispositif de renforcement de fluorescence selon l'invention.

Un premier exemple concerne le greffage d'oligonucléotides *in situ*. La face libre des moyens de renforcement de fluorescence est traitée par voie 10 chimique pour obtenir des fonctions hydroxyles en surface. Le dispositif fonctionnalisé est ensuite introduit dans un synthétiseur automatique d'oligonucléotides (Expedite 8909, PE Biosystems) qui permet de faire croître base par base un 15 oligonucléotide de 20 mères de séquence 3' TTT TTA TCT CAC CCA AAT Ag5'.

Un deuxième exemple concerne le greffage d'oligonucléotides présynthétisés. La face libre des moyens de renforcement de fluorescence est traitée par 20 voie chimique pour obtenir dans ce cas une fonction aldéhyde. Une solution d'oligonucléotides (5 μM) comportant une fonction NH_2 en 5' dans un tampon phosphate est déposée sur le substrat dans des conditions permettant la formation d'une liaison 25 covalente imine ($-\text{CH} = \text{N}-$) entre le dispositif et l'oligonucléotide. Après une nuit d'incubation à température ambiante, le dispositif est rincé dans une solution de SDS (dodécylsulfate de sodium) puis dans l'eau. La liaison imine n'étant pas très stable, il est 30 prévu une étape de réduction de la double liaison en présence de Na_2BH_4 pendant 10 minutes. Le dispositif est

à nouveau rincé avec du SDS puis avec de l'eau. Il est ensuite séché sous flux d'azote.

L'étape d'hybridation consiste à mettre en présence, le dispositif comportant les sondes et une 5 solution constituée d'un tampon et de cibles de séquence complémentaire aux sondes comportant un fluorophore CY3 en position 5'. Les conditions d'hybridation permettant l'appariement des sondes et des cibles sont les suivantes :

10 - solution d'hybridation : 300 μ l de cibles à 0,2 μ M + 900 μ l de tampon d'hybridation H-7140/Sigma,
- incubation dans une étuve à 40°C pendant 1 heure du dispositif recouvert de la solution,
- rinçage dans un bain de tampon SSC 2X (S-
15 6639/Sigma) pendant 1 minute,
- rinçage dans un bain de tampon SSC 0,2X (S-6639/Sigma) pendant 1 minute,
- séchage sous flux d'azote.

L'observation faite avec un microscope en 20 fluorescence (Olympus BX60) de différents empilements selon l'invention, conduit aux intensités de fluorescence suivantes pour des temps d'intégration de 1 seconde et un objectif 5X (les unités sont exprimées en unité arbitraire UA) :

25 - Support en Si et monocouche de SiO_2 de 500 nm d'épaisseur déposé par décomposition de tétraéthoxysilane (TEOS), synthèse in situ : 225 UA.
- Support en Si et empilement de couches de SiO_2 et de Si_3N_4 , synthèse in situ : 593 UA. Pour ce 30 type de greffage, le même rapport de renforcement de

fluorescence est obtenu avec une concentration de cibles 4 fois plus faible ($0,05 \mu\text{M}$ au lieu de $0,2 \mu\text{M}$).

- Support en Si et monocouche de SiO_2 de 500 nm d'épaisseur déposé par décomposition de TEOS, 5 oligonucléotides présynthétisés : 140 UA.

- Support en Si et empilement de couches de SiO_2 et de Si_3N_4 , oligonucléotides présynthétisés : 326 UA.

Il faut noter que l'invention s'applique 10 également à des systèmes de lecture de type scanners confocaux.

L'empilement de couches minces optiques diélectriques permet de vérifier plusieurs points.

Il est possible d'augmenter le champ 15 d'excitation des fluorophores par rapport à une configuration sans empilement de couches minces. Ceci permet d'augmenter la quantité de lumière émise par les fluorophores. La solution la plus simple consiste à déposer un empilement de type quart d'onde.

Il est possible d'améliorer la 20 directionnalité de la lumière émise par les fluorophores. Ceci permet d'améliorer la quantité de lumière collectée par le microscope ou le scanner de lecture. Ce n'est pas le cas pour les dispositifs de 25 l'art antérieur.

L'emploi de cet empilement, que l'on peut assimiler à un "cristal photonique à une dimension", présente des propriétés de bande interdite qui lui procure un large domaine spectral d'excitation. La 30 longueur d'onde d'excitation peut être choisie sur l'ensemble de la largeur de bande du miroir

diélectrique (typiquement > 100 nm). Ceci permet par ailleurs l'emploi simultané de plusieurs fluorophores compatibles avec cette bande spectrale. Ceci n'est pas le cas pour les dispositifs de l'art antérieur.

5 La propriété précédente a également pour conséquence d'introduire une souplesse sur le choix de l'incidence de la lumière d'excitation. Ceci n'est pas le cas pour les dispositifs de l'art antérieur.

10 Il est possible d'obtenir un renforcement du signal en travaillant en incidence normale, dans l'espace libre sans faire appel à des structures guidantes. Dans ce cas, l'excitation des fluorophores du biocapteur est réalisée avec un système non dédié. L'invention est compatible avec des appareils 15 commerciaux.

L'invention permet de bloquer la lumière d'excitation dans l'empilement et de limiter la fluorescence parasite venant du substrat.

20 L'invention permet aussi de ne pas employer de couches minces métalliques dans l'empilement. La présence de ces matériaux provoque l'apparition de pertes non radiatives qui limitent l'efficacité du renforcement de fluorescence.

25 L'invention propose des empilements de haute qualité optique en termes de pertes par absorption. En particulier, on cherche à minimiser l'influence de la dernière couche mince (celle sur laquelle sont déposés les fluorophores). Cette couche est particulièrement optimisée. On cherche à obtenir 30 des coefficients d'extinction les plus faibles possible (indice imaginaire). Typiquement, des coefficients

d'extinction inférieures à 10^{-3} sont requis. Dans ce cas, les pertes non radiatives sont limitées.

REVENDICATIONS

1. Dispositif de renforcement de fluorescence comprenant un support (1, 10) supportant 5 des moyens de renforcement de fluorescence (2, 11), les moyens de renforcement de fluorescence offrant une face de réception pour des éléments chimiques ou biologiques (3) destinés à être lus par détection d'un signal de fluorescence émis par un fluorophore, associé aux 10 éléments chimiques ou biologiques, sous l'effet d'un faisceau lumineux d'excitation, caractérisé en ce que les moyens de renforcement de fluorescence (2, 11) sont constitués par une couche mince diélectrique transparente ou un empilement de couches minces 15 diélectriques transparentes (12 à 16) assurant une fonction miroir pour le signal de fluorescence et pour le faisceau lumineux d'excitation, le matériau de la couche mince ou de chaque couche mince de l'empilement étant choisi parmi les matériaux suivants : TiO_2 , Ta_2O_5 , 20 HfO_2 , ZrO_2 , MgO , SiO_2 , Si_3N_4 , MgF_2 et YF_3 .

2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'épaisseur e de la couche mince (2) ou l'épaisseur de chaque couche mince (12 à 16) de 25 l'empilement est calculée à partir de la formule suivante :

$$N.e = k.\lambda/4$$

où N est l'indice de réfraction du matériau de couche mince pour la longueur λ du signal de lecture et k est 30 un entier impair.

3. Dispositif selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que les moyens de renforcement de fluorescence sont des moyens déposés sur une face structurée du support.

5

4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ladite face de réception est une face offrant des fonctions hydroxyles.

10

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ladite face de réception est une face offrant des fonctions aldéhydes.

15

6. Capteur optique biologique ou chimique constitué par le dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ladite face de réception supportant des éléments chimiques ou biologiques marqués par un fluorophore.

1 / 1

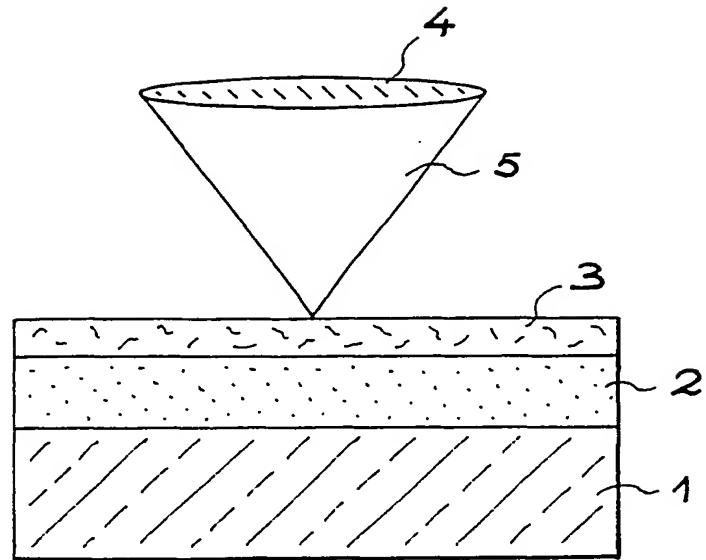


FIG. 1

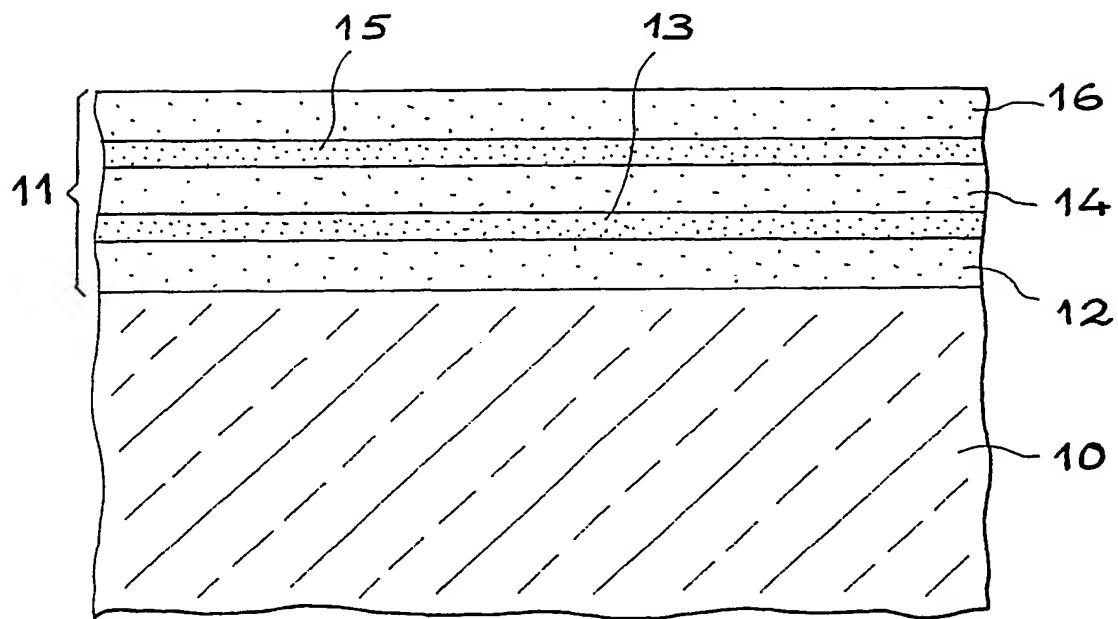


FIG. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l

International Application No

/FR 01/03960

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N21/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 552 272 A (BOGART GREGORY R) 3 September 1996 (1996-09-03) column 3, line 24 – line 42 column 3, line 64 – column 4, line 2 column 8, line 49 – line 55 claims 5,23	1,2,6
A	US 5 478 755 A (ATTRIDGE JOHN W ET AL) 26 December 1995 (1995-12-26) claims 1,2	1,6
A	DE 29 46 234 A (ECKERT THEODOR PROF DR;KNIE ULRICH) 27 May 1981 (1981-05-27) claim	1,6

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

10 April 2002

18/04/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL – 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Krametz, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In International Application No

PCT/FR 01/03960

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
US 5552272	A	03-09-1996	NONE			
US 5478755	A	26-12-1995	US AT AU AU CA DE DE EP EP ES WO JP JP NO ZA	5830766 A 103394 T 638938 B2 4043389 A 1339005 A1 68914134 D1 68914134 T2 0353937 A1 0382832 A1 2050277 T3 9001166 A1 2969177 B2 3502604 T 177407 B 8905648 A		03-11-1998 15-04-1994 15-07-1993 19-02-1990 25-03-1997 28-04-1994 11-08-1994 07-02-1990 22-08-1990 16-05-1994 08-02-1990 02-11-1999 13-06-1991 29-05-1995 27-06-1990
DE 2946234	A	27-05-1981	DE	2946234 A1		27-05-1981

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D.

de Internationale No

FR 01/03960

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 GO1N21/64

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 GO1N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 5 552 272 A (BOGART GREGORY R) 3 septembre 1996 (1996-09-03) colonne 3, ligne 24 – ligne 42 colonne 3, ligne 64 – colonne 4, ligne 2 colonne 8, ligne 49 – ligne 55 revendications 5,23 —	1,2,6
A	US 5 478 755 A (ATTRIDGE JOHN W ET AL) 26 décembre 1995 (1995-12-26) revendications 1,2 —	1,6
A	DE 29 46 234 A (ECKERT THEODOR PROF DR;KNIE ULRICH) 27 mai 1981 (1981-05-27) revendication —	1,6

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

10 avril 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18/04/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Krametz, E

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relat

x membres de familles de brevets

Document brevet internationale No

PCT/FR 01/03960

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de famille de brevet(s)		Date de publication
US 5552272	A	03-09-1996	AUCUN		
US 5478755	A	26-12-1995	US 5830766 A AT 103394 T AU 638938 B2 AU 4043389 A CA 1339005 A1 DE 68914134 D1 DE 68914134 T2 EP 0353937 A1 EP 0382832 A1 ES 2050277 T3 WO 9001166 A1 JP 2969177 B2 JP 3502604 T NO 177407 B ZA 8905648 A	03-11-1998 15-04-1994 15-07-1993 19-02-1990 25-03-1997 28-04-1994 11-08-1994 07-02-1990 22-08-1990 16-05-1994 08-02-1990 02-11-1999 13-06-1991 29-05-1995 27-06-1990	
DE 2946234	A	27-05-1981	DE 2946234 A1		27-05-1981